Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 4, Winter 2024, p. 901-914

Evaluation of Photosystem II Activity in Two Almond Genotypes under Drought Stress by Exploring the OJIP Test

M. Fattahi[1]*, S. Nasrollahpourmoghadam[2]

1- Instructor, Department of Agriculture Science, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: Ma.fatahi67@gmail.com)
2- Ph.D., Department of Agriculture, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

Received: 12-03-2022 Revised: 28-11-2022 Accepted: 22-01-2023 Available Online: 22-01-2023	**How to cite this article:** Fattahi, M., & Nasrollahpourmoghadam, S. (2024). Evaluation of photosystem II activity in two almond genotypes under drought stress by exploring the OJIP test. *Journal of Horticultural Science, 37*(4), 901-914. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.75794.1150

Introduction

Almond (*Prunus amygdalus*) is considered to be able to tolerate drought stress fairly well during all stages of growth. Water shortages are very frequent in many countries, and, together with the rising demand for the industry, the growth of the human population, climate change and specifically the trend towards irrigated agriculture, have led to widespread problems of water scarcity in most countries. Plant responses to water deprivation are usually monitored through selected morphological and physiological parameters which have been proven to be good indicators of drought in different studies. Chlorophyll a (Chl a) fluorescence, produced by the Chl a molecule after excitation by light, is a non-invasive and rapid biomarker for the assessment of stress (microbial and environmental) effects on PSII, as well as its structure and function. Fluorescence induction patterns and derived indices have been used as empirical diagnostic tools in stress physiology. The aim of this study was to investigate the effect of water stress on chlorophyll fluorescence parameters in two almond genotypes. It is known that the kinetics of fluorescence transients are polyphasic when plotted on a logarithmic time scale labeled as OJIP. This curve rises from an initial low-value F0 (minimal fluorescence) to FJ (fluorescence value at 2 ms) and FI (fluorescence value at about 20–30 ms) and a peak of fluorescence FP (maximal fluorescence or Fm).

Materials and Methods

The Experiment was carried out under a completely randomized design with split arrangement having three replications. Chlorophyll and carotenoid contents were determined by the method of Lichtenthaler (1986). Fresh leaves (1 g) were triturated in 80% acetone. The absorbance of the extracts was measured at 645, 663, and 470 nm using a spectrophotometer. Chlorophyll fluorescence was measured 40 days after the start of drought treatment. Full expanded leaves were selected from each plant for measurements. They were measured with a portable photosynthetic efficiency analyzer model (Hansatech, United Kingdom). Calculations were made with computer-assisted analysis using the SPSS 25 software.

Results and Discussion

The results showed that the maximum total fresh and dry mass was recorded in the Mamaei cultivar. The drought stress caused a significant reduction in a, b, total chlorophyll and carotenoids in Rabie (R) as well as Mamaei (M) cultivars but in general, M plants had higher content of pigments in comparison with R plants under drought stress. In both of cultivars, the potential efficiency of PSII photochemistry (Fv/Fm) was reduced with an increasing drought intensity. The reduction of Fv/Fm was accompanied by a decline in Fv and Fm. The VJ, relative variable fluorescence at J step (2 ms), was increased with increase in drought levels. Plants response to

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.75794.1150

drought depends on PSII ability to respond to this stress. It has been reported that water limitation reduces the quantum yield of PSII electron transport, which in turn decreases the amount of light energy reaching the reaction centers. PSII plays a pivotal role in mediating oxygen evolution activity. In our study, we observed an interaction between cultivar and drought treatment, particularly evident in parameters such as Fm, Fv, Fv/Fm, and PI. Additionally, our findings revealed a robust correlation between the Pi index and total chlorophyll content (0.647), as well as the fresh (0.685) and dry (0.695) weight of plants. Furthermore, our results indicate that drought stress significantly impairs the growth of cultivars grafted on GN15 rootstock. This may be the outcome of the inhibition of water shortage on the photosynthetic apparatus. The results discovered that carotenoids were higher in M cultivar than R cultivar, carotenoids protect the photosynthetic apparatus from photooxidative damage. Protection is afforded by quenching of the triplet state of chlorophyll, thereby preventing the formation of harmful oxidative species. We also found the performance index is the parameter that better reflects the responses of the studied cultivars to progressive drought stress.

Conclusion

We applied chlorophyll fluorescence as a biomarker to assess the growth response and PSII behavior and performance of two almond cultivars to different drought levels. In conclusion, Mamaei was less affected by drought stress in terms of total Chl, Fv/Fm, PI, and total fresh and dry weight followed by Rabie. Differential responses among cultivars under drought stress treatments were observed regarding their capacity to induce PSII activity. Parameters derived from the JIP test proved effective in characterizing the degree of response to drought stress, with PI serving as a particularly responsive multi-parametric expression.

Keywords: Chlorophyll, Correlation, Dehydration, Fluorescence

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ٤، زمستان ١٤٠٢، ص. ٩١٤-٩٠١

بررسی فعالیت فتوسیستم II در دو ژنوتیپ بادام تحت تنش خشکی با کاوش در آزمون OJIP

مسعود فتاحی[۱]* **- شیرین نصراله پور مقدم**[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۲

چکیده

به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر روی دو رقم بادام، از فلورسانس کلروفیل به‌عنوان یک نشانگر زیستی برای ارزیابی فتوسیستم II و پاسخ رشدی استفاده شد. در این تحقیق واکنش دو رقم بادام 'ربیع' و 'مامایی' پیوند شده بر روی پایه GN15، به رژیم‌های آبیاری (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به عنوان شاهد و ۸۰ درصد، ۶۰ درصد و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) در آزمایشی گلدانی و گلخانه‌ای بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد محدود کردن آب آبیاری باعث کاهش وزن تر و خشک کل گیاهان و همچنین غلظت کلرفیل a، b و کل گردید. همچنین حداکثر فلورسانس (Fm)، حداکثر فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر عملکرد کوانتمی فتوسیستم II (Fv/Fm) و شاخص عملکرد (PI) در اثر تنش خشکی کاهش یافت. میزان کلروفیل a، کل و کارتنوئیدها و همچنین وزن تر و خشک کل به‌ترتیب به میزان ۱۷، ۱۶، ۲۵، ۱۶ و ۱۴ درصد و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل (Fv، Fm و Fv/Fm) در رقم 'مامایی' بیشتر از رقم 'ربیع' بود. فلورسانس متغیر نسبی (Vj) در اثر تنش خشکی افزایش یافت و شدت فلورسانس کلروفیل (Fj و Fi) تحت تأثیر برهمکنش تنش خشکی و رقم قرار گرفت. در بررسی ماتریکس همبستگی رابطه قوی بین شاخص عملکرد (PI) و محتوای کلرفیل کل و وزن تر و خشک کل گیاه وجود داشت. به‌طور کلی تغییر در فلورسانس رقم 'مامایی' نسبت به رقم'ربیع' کمتر بود و غلظت کلروفیل a و میزان وزن تر و خشک این رقم در این آزمایش بیشتر بود. طبق نتایج بدست آمده به‌نظر می‌رسد رقم 'مامایی' نسبت به رقم 'ربیع' دارای تحمل بیشتری در برابر محدودیت آبیاری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فلورسانس، کلروفیل، کم آبی، همبستگی

مقدمه

بادام (*Prunus dulcis* Mill.) یکی از درختان میوه مقاوم به کم آبی است. انتخاب ارقام بادام مناسب در مناطق خشک و نیمه‌خشک مانند ایران به‌منظور تولید بهینه محصول اهمیت زیادی دارد و می‌تواند یکی از راه‌کارهای مهم و پایدار در حفظ و توسعه باغبانی باشد (Cirio, 1997). آنچه‌که واضح و مبرهن است تفاوت بین ژنوتیپ‌های مختلف بادام در برابر تنش‌های محیطی مانند خشکی است (Barzegar *et al*., 2012). بنابراین بررسی و مقایسه ارقام مختلف در مواجهه با تنش کم آبی به منظور یافتن بهترین رقم برای این شرایط ضروری می‌باشد.

محدودیت آب یکی از مشکلات عمده در بخش کشاورزی است که باعث ایجاد محدودیت در گسترش کشت و کار گیاهان شده است. علاوه بر این خشکی پدیده‌ای بحرانی و اجتناب‌ناپذیر است که همه‌ساله در بخش‌های مختلف دنیا به‌طور متفاوتی با توجه به دامنه و شدت آن به تولید محصولات مختلف از جمله بادام آسیب وارد می‌کند. واکنش گیاهان به محدودیت آب معمولا از طریق شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی (Fathi *et al*., 2017) رخ می‌دهد. از طرف دیگر کم‌آبی مانع از رشد و نمو گیاه شده و به‌طور مستقیم بر فرآیندهای فتوسنتزی تاثیر دارد که باعث محدودیت‌های فیزیولوژیکی و کاهش شدید در عملکرد گیاه می‌شود (Jimenez *et al*., 2020).

فتوسنتز فرآیندی است که طی آن گیاهان و سایر موجودات

۱- مربی، گروه کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Ma.fatahi67@gmail.com)
۲- دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.75794.1150

فتوسنتزکننده انرژی تابشی را به شکل شیمیایی پایدار تبدیل می‌کنند. مسیر این انتقال انرژی پیچیده است و مکانیسم‌های فیزیکی و شیمیایی مختلفی را در بر می‌گیرد. بسیاری از اجزاء این فرایند، زمانی آغاز می‌شود که نور توسط مولکول‌های آنتن در غشاءهای فتوسنتزی جذب شود. انرژی جذب شده به‌عنوان انرژی محرک یا در مرکز واکنش به دام می‌افتد و یا برای انجام کارهای مفید شیمیایی استفاده می‌شود. در غیر این‌صورت بیشتر این انرژی بصورت گرما و مقدار کمتری بصورت تشعشعات فلورسانس ساطع می‌گردد (Pstrasser *et al*., 2001). غلظت کلروفیل تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله تنش‌های محیطی مانند شوری، خشکی و سرما کاهش پیدا می‌کند که علت آن تخریب اجزای پروتئینی و لیپیدی غشای تیلاکوئیدی (Hu *et al*., 2006) یا کاهش عناصر غذایی جهت سنتز کلروفیل و یا افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده کلروفیل مانند کلروفیلاز است (Parvaiz *et al*., 2008;Hussain *et al*., 2008). در این میان فتوسیستم II که نقش مهمی در فتوسنتز و واکنش‌های نوری گیاهان در شرایط تنش دارد اولین بخشی است که به تنش‌های محیطی واکنش می‌دهد (Baker, 1991) به همین دلیل آپوستولورا و همکاران (Apostolova *et al*., 2008) بیان کردند که در زنجیره انتقال الکترون، فتوسیستم II نسبت به فتوسیستم I در برابر تنش‌های محیطی حساس‌تر است. یکی از دلایل حساسیت بیشتر فتوسیستم II وجود کمپلکس تجزیه کننده آب در این فتوسیستم می‌باشد. فلورسانس کلروفیل به‌عنوان بازتاب واکنش‌های ابتدایی فتوسنتز یک شاخص معتبر برای تشخیص تغییرات القایی در سیستم فتوسنتزی است که ارزیابی آن نیاز به آسیب به بافت و تخریب آن ندارد (Mehata *et al*., 2010). استفاده از فلورسانس کلروفیل به‌منظور مطالعه شرایط فتوسنتزی در تنش‌های شوری و خشکی در گیاهان مختلف از جمله پسته انجام شده است (Yaman *et al*., 2008 ; Shamshiri & Fattahi, 2016Zlatey, 2009;). در بررسی تکنیک‌های فلورسانس کلرفیل به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌ها متحمل برنج در برابر تنش سرمایی، نتایج نشان داد فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm)، فلورسانس حداکثر (Fo) و انتقال الکترون کاهش یافت. همچنین ارقام دارای تحمل بیشتر کمترین تغییرات را در پارامترهای فلورسانس نشان دادند (Hassani *et al*., 2014). در مطالعه دیگر تأثیر تنش شوری بر فعالیت فتوسیستم II پایه‌های مختلف پسته بررسی گردید که نتایج نشان داد در اثر تنش شوری شاخص‌های وزن خشک کل، کلرفیل کل، Fm، Fv، Fv/Fm و PI کاهش یافت (Shamshiri & Fattahi, 2016). فتحی و همکاران (Fathi *et al*., 2019) گزارش کردند که نهال‌های بادام روی پایه GN15 می‌توانند تنش ملایم را تحمل کنند اما تنش شدید در مدت زمان طولانی رشد نهال را تحت تأثیر قرار می‌دهد و پاسخ رشدی در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بود.

همچنین اظهار داشتند که فلورسانس کلروفیل یک معیار مناسب برای تعیین اثر تنش خشکی در بادام می‌باشد. با توجه به اهمیت واکنش‌های نوری در گیاهان و تأثیر آن بر ماده خشک، همچنین اثرات مخرب تنش خشکی بر فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی، پژوهش حاضر باهدف بررسی تاثیر رژیم‌های مختلف آبیاری بر وضعیت فلورسانس کلروفیل، غلظت رنگدانه‌های گیاهی و ماده‌خشک ارقام بادام ربیع و مامایی در مرحله دانهالی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل رقم بادام در دو سطح (رقم 'ربیع' و 'مامایی') و تنش خشکی در چهار سطح (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان شاهد و ۸۰ درصد، ۶۰ درصد و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) با سه تکرار اجرا شد. از جنس پرونوس پایه GN15 دارای پیوندک ربیع و مامایی (تهیه شده از مرکز تولید نهال‌های رویشی درختان میوه شهرستان سامان، شهرکرد) همسن (۲ ماهه) و یکنواخت از نظر ظاهری انتخاب و ۱۵ عدد از هر کدام، در گلدان‌های ۷ لیتری پرشده با مخلوطی از خاک مزرعه و ماسه (دارای اسیدیته ۷/۴، هدایت الکتریکی ۰/۹ دسی‌زیمنس بر متر) به نسبت برابر کاشته (یک گیاه در هر گلدان و هر ۵ گیاه، یک تکرار در نظر گرفته شد) و برای سه ماه در شرایط گلخانه‌ای واقع در مرکز تولید نهال‌های رویشی درختان میوه در شهرستان سامان با دمای ۵± ۲۸ درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی ۳۷/۷ درصد و شدت نور میانه روز ۱۰± ۴۳ کیلولوکس نگهداری و آبیاری شدند. تنش خشکی سه ماه پس از انتقال نهال‌ها به گلدان، به‌روش محدودیت در میزان آب آبیاری در سه سطح ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد از ظرفیت‌زراعی خاک به مدت ۴۰ روز در شرایط گلخانه اعمال شد و گیاهان شاهد با ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. فلورسانس کلروفیل ۴۰ روز بعد از اعمال تنش خشکی در برگ‌های کاملاً توسعه یافته گیاه اندازه‌گیری شد. به این منظور از دستگاه بررسی کارایی فتوسنتز (*Hansatech, United Kingdom*) استفاده شد. برگ گیاه با استفاده از گیره‌های مخصوص به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند بعد از سازگاری با تاریکی، سنسور دستگاه برای اندازه‌گیری روی برگ نصب شد. فلورسانس حداقل (Fo) با همه‌ی مراکز واکنشی باز فتوسیستم II، توسط نور با شدت پایین ($0.1\ \mu mol\ m^{-2}s^{-1}$) و فلورسانس حداکثر (Fm) با تابش پالس اشباع نوری ($8000\ \mu mol\ m^{-2}s^{-1}$) به مدت یک ثانیه در برگ‌های سازگار به تاریکی تعیین شد. فلورسانس گذرا با توجه به معادلات زیر تست JIP تجزیه و تحلیل شدند (Pstrasser Strasser *et al*., 200 ; *et al*., 2001; Strasser *et al*., 2004). پارامترهای بیوفیزیکی توسط نرم‌افزار (*Hansatech, United Kingdom*) محاسبه شدند.

F_0 (F50 µS) [1] ۱

Fv = Fm – F0 [2] ۲

VJ = (FJ – F0)/(Fm – F0) [3] ۳

PI = (RC/ABS) [(TR0/ABS)/(F0/Fm)] [(ET0/TR0)/VJ][4] ۴

QEo = ET0/ABS = [1 – (F0/Fm)]ψo[5] ۵

به‌منظور بررسی وزن تر و میزان تولید ماده خشک، گیاهان هر تکرار برداشت و در سه قسمت برگ، ساقه و ریشه توزین و برای اندازه‌گیری وزن خشک، در پاکت‌های کاغذی بسته بندی و در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفته و پس از خشک شدن وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان تنش برای اندازه-گیری محتوای کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها به‌طور تصادفی از برگ‌های بالغ و جوان هر گیاه در سه تکرار نمونه‌برداری شد و میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل با استفاده از روش لیختنتالر (Lichtenthaler, 1987) از طریق عصاره‌گیری با استون اندازه‌گیری شد. میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (*PG Instruments, T80 UV/VIS*) در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر قرائت و مقدار رنگیزه‌ها براساس معادلات زیر محاسبه گردید.

Chla ($mg.g^{-1}$ fw)={12.25 (A663.2)- 2.79 (A646.8)} × V/1000 × W

Chlb ($mg.g^{-1}$ fw) = {25.51(A646.8)- 5.10 (A663.2)} × V/1000 × W

ChT ($mg.g^{-1}$ fw)= Chlb + Chla

1000 (A470)- 1.8 (chla) - 85.02 (chlb) /198][(Car ($mg.g^{-1}$ fw)=

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار $SPSS_{25}$ و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد (*$P\leq0.05$*) صورت گرفت.

نتایج و بحث

مقایسه میانگین‌ها در این آزمایش نشان داد وزن تر و خشک کل گیاه تحت تأثیر رقم و تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۱). وزن تر و خشک کل در گیاهان رقم مامایی (به‌ترتیب ۳۱/۷ و ۲۰/۴ گرم) نسبت به گیاهان رقم ربیع (به‌ترتیب ۲۶/۷ و ۱۷/۶ گرم) بیشتر بود و در اثر اعمال محدودیت آبیاری وزن تر و خشک کاهش یافت و کمترین وزن تر و خشک کل مربوط به تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به‌ترتیب با میانگین ۱۷/۳ و ۱۱/۲ گرم بود. محتوای کلروفیل a و کل در رقم مامایی بیشتر ازرقم ربیع بود و مقدار کلرفیل a، b و کل در اثر تنش خشکی در سطوح ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش یافت. در سطوح تنش خشکی ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی میزان کلروفیل a، به‌ترتیب با میانگین ۴/۲۵ و ۲/۸۲ و کلروفیل کل به‌ترتیب با میانگین ۵/۵۹ و ۳/۸۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک دارای تفاوت معنی‌دار بودند. کم‌ترین میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. غلظت کارتنوئیدها در رقم ربیع (۱/۹۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) نسبت به رقم مامایی (۲/۶۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) کمتر بود و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر محتوای کارتنوئیدهای برگ نداشت. از یافته‌های قبلی استنباط می‌شود که واکنش ژنوتیپ‌های مختلف در برابر تنش‌های محیطی متفاوت است که به ساختار ژنتیکی آن‌ها برمی‌گردد (Karimi *et al.*, 2015). بنابراین تفاوت ارقام مامایی و ربیع در شاخص‌های مختلف نیز ممکن است به دلیل تفاوت در ساختار ژنتیکی آن‌ها باشد. از طرف دیگر پاسخ‌های رشدی نهال‌ها به تنش کم‌آبی بصورت تغییر در سطح برگ، طول و تراکم ریشه و وزن تر و خشک اندام‌ها می‌باشد که یکی از علت‌های آن بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تبادلات گازی و در نهایت کاهش فتوسنتز می‌باشد (Yadollahi *et al.*, 2011). یکی از عکس‌العمل‌های مهم ارقام بادام در برابر تنش آبی به‌ویژه در سطوح شدید آن، ریزش برگ و کاهش سطح برگ می‌باشد که می‌تواند باعث کاهش وزن تر و خشک گیاهان تحت تیمار نسبت به گیاهان شاهد شود (Levitt, 1980; Bacelar *et al.*, 2006). نتایج این پژوهش در ارتباط با کاهش ماده خشک با مطالعات گذشته بر روی بادام مطابقت دارد (Ali *et al.*, 2011; Rieger *et al.*, 2003; Fathi *et al.*, 2019). کاهش در محتوای کلروفیل ممکن است به دلیل کاهش سنتز کلروفیل، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز) و تخریب مولکولی کلروفیل به علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد. از طرفی ممکن است کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی به علت تخریب غشاء کلروپلاست و تیلاکوئیدها باشد (Hussain *et al.*,Parvaiz & Satyawat, 2008; Hussain *et al.*, 2009; 2008).

شاخص‌های Fm، Fv و Fv/Fm تحت تأثیر برهمکنش تیمارهای رقم و محدودیت در آبیاری قرار گرفتند (جدول ۲). در اثر تنش خشکی Fm، Fv و Fv/Fm در هر دو رقم ربیع و مامایی کاهش یافت و کمترین مقدار آن‌ها در سطح تنش شدید (۴۰ ٪ ظرفیت زراعی) مشاهده شد.

1- Minimal fluorescence, when all PSII RCs are open
2- Maximal variable fluorescence
3- Relative variable fluorescence at the J_step
4- Performance index for energy conservation from photonsabsorbed by PSII antenna, to the reduction of QB
5- Probability that an absorbed photon will move an electron into electron transport further than QA

جدول ۱- اثرات ساده ارقام بادام و سطوح مختلف تنش خشکی بر صفات مطالعه شده

Table 1- The simple effects of almond cultivars and different levels of drought stress on the studied traits

تیمارها Treatments	حداکثر عملکرد کوانتمی فتوسیستم II Fv/Fm	حداکثرفلورسانس متغیر Fv	حداکثر فلورسانس Fm	کارتنوئید Carotenoids ($mg.g^{-1}$ DW)	کلرفیل کل Total Ch ($mg.g^{-1}$ DW)	کلرفیل b Ch b ($mg.g^{-1}$ DW)	کلرفیل a Ch a ($mg.g^{-1}$ DW)	وزن خشک کل Total dry weigth (g)	وزن تر کل Total fresh weigth (g)
رقم Cultivar									
'ربیع' 'Rabie'	0.41^{b}	5744^{b}	11235^{b}	1.96^{b}	5.51^{b}	1.45^{ns}	4.06^{b}	17.6^{b}	26.7^{b}
'مامایی' 'Mamaei'	0.60^{a}	9195^{a}	14044^{a}	2.62^{a}	6.60^{a}	1.68^{ns}	4.92^{a}	20.4^{a}	31.7^{a}
تنش خشکی Drought stress (%FC)									
100 (Control)	0.77^{a}	12276^{a}	17781^{a}	2.46^{ns}	7.43^{a}	2.00^{a}	5.43^{a}	25.9^{a}	38.0^{a}
80	0.60^{b}	7125^{b}	13559^{b}	2.34^{ns}	7.39^{a}	1.93^{a}	5.46^{a}	22.2^{a}	34.4^{a}
60	0.45^{c}	7940^{b}	11850^{b}	2.38^{ns}	5.59^{b}	1.35^{b}	4.25^{b}	16.5^{b}	27.3^{b}
40	0.18^{d}	2539^{c}	7369^{c}	1.99^{ns}	3.81^{c}	0.99^{b}	2.82^{c}	11.2^{c}	17.3^{c}

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در هر تیمار بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 5% of probability level, using Duncan's multiple range test.

جدول ۲-: اثرات متقابل ارقام بادام × سطوح مختلف تنش خشکی بر صفات مطالعه شده

Table 2- The interaction effects of almond cultivars ×different levels of drought stress on the studied traits

تیمارها Treatments		حداکثر عملکرد کوانتمی فتوسیستم II Fv/Fm	حداکثرفلورسانس متغیر Fv	حداکثر فلورسانس Fm	کارتنوئید Carotenoids (mg.g^{-1} DW)	کلرفیل کل Total Ch (mg.g^{-1} DW)	کلرفیل b Ch b (mg.g^{-1} DW)	کلرفیل a Ch a (mg.g^{-1} DW)	وزن خشک کل Total dry weight (g)	وزن تر کل Total fresh weigth (g)
رقم Cultivar	تنش خشکی Drought stress (%FC)									
'ربیع' 'Rabie'	100 (Control)	0.75^{a}	10781^{b}	17325^{a}	2.24^{ns}	7.08^{ns}	2.02^{ns}	5.05^{ns}	25.1^{ns}	35.6^{ns}
	80	0.53^{b}	7149^{c}	15338^{ab}	2.21^{ns}	6.47^{ns}	1.67^{ns}	4.80^{ns}	19.1^{ns}	31.1^{ns}
	60	0.21^{c}	3097^{d}	5426^{d}	2.21^{ns}	5.52^{ns}	1.42^{ns}	4.10^{ns}	16.1^{ns}	26.3^{ns}
	40	0.14^{c}	1950^{d}	6852^{d}	1.19^{ns}	2.98^{ns}	0.68^{ns}	2.30^{ns}	9.9^{ns}	14.0^{ns}
'مامایی' 'Mamaei'	100 (Control)	0.79^{a}	13770^{a}	18236^{a}	2.67^{ns}	7.79^{ns}	1.97^{ns}	5.81^{ns}	26.7^{ns}	40.4^{ns}
	80	0.67^{a}	7101^{c}	11781^{bc}	2.47^{ns}	8.30^{ns}	2.18^{ns}	6.12^{ns}	25.4^{ns}	37.8^{ns}
	60	0.70^{a}	12783^{a}	18273^{a}	2.56^{ns}	5.67^{ns}	1.27^{ns}	4.40^{ns}	16.9^{ns}	28.3^{ns}
	40	0.23^{c}	3128^{d}	7887^{cd}	2.79^{ns}	4.63^{ns}	1.29^{ns}	3.34^{ns}	12.5^{ns}	20.5^{ns}

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در هر تیمار بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 5% of probability level, using Duncan's multiple range test

نتایج نشان داد در اثر تنش خشکی و در هر دو رقم ربیع و مامایی Fm کاهش یافت که با نتایج آزمایشات گذشته در برنج تحت تنش شوری (Yaman *et al*., 2008)، پسته تحت تنش شوری (Shamshiri & Fattahi, 2016) و برنج تحت تنش خشکی (Hassani *et al*., 2014) مطابقت دارد. علت کاهش Fm ممکن است به دلیل کاهش فعالیت کمپلکس آنزیم تجزیه کننده آب و همچنین چرخه انتقال الکترون در درون یا اطراف فتوسیستم II باشد (Yao *et al*., 2018;Zlatev, 2009). فلورسانس متغیر یا Fv که وضعیت جریان الکترون از بخش فتوسیستم به پلاستوکوئینون (Q_A) را نشان می‌دهد (Xia *et al*., 2004) از اختلاف فلورسانس حداکثر (Fm) با فلورسانس حداقل (Fo) محاسبه می‌شود. کاهش در فلورسانس متغیر در اثر تنش خشکی ممکن است به دلیل کند شدن جریان الکترون از فتوسیستم II باشد. همچنین Vj در اثر اعمال تنش خشکی افزایش یافت که می‌تواند به علت کاهش Q_A کل و اکسیداسیون پایین Q_A^- (کاهش سرعت اکسیداسیون مجدد Q_A) در اثر تنش خشکی باشد (Strasser *et al*., 2004).

در این آزمایش کاهش شاخص Fv/Fm که نشان‌دهنده حداکثر کارایی کوانتمی فتوسیستم II برای تبدیل انرژی نورانی به شیمیایی است، اتفاق افتاد که با نتایج آزمایشات دیگر بر روی برنج در اثر تنش خشکی (Hassani *et al*., 2014) و پسته در اثر تنش شوری (Shamshiri & Fattahi, 2016) مطابقت دارد.

شاخص Fv/Fm به‌طور گسترده برای ارزیابی اختلالات ناشی از تنش در مرکز فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری استفاده شده است (Baker & Rosenqvist, 2004; Li *et al*., 2004; Li *et al*., 2008; Shamshiri & Fattahi, 2016). نتایج این پژوهش نشان داد Fv و Fv/Fm در رقم مامایی نسبت به رقم ربیع بیشتر بود. با کاهش سرعت فعالیت فتوسنتزی و تثبیت CO_2 در اثر تنش خشکی، میزان انرژی لازم نیز کاهش می‌یابد که منجر به کاهش سرعت انتقال الکترون در زنجیره می‌شود (Zlatev *et al*., 2009; Zhou *et al*., 2017). بنابراین ارقامی که سرعت انتقال الکترون در آن‌ها بهتر است و در اثر تنش خشکی کمتر کاهش پیدا می‌کند سرعت فتوسنتز بیشتری دارند و شرایط کم‌آبی را بهتر تحمل می‌کنند. نتایج این آزمایش تا حد زیادی با نتایج به‌دست آمده از تجزیه به مولفه‌های اصلی (شکل ۱ و ۲) صفات رویشی و محتوای کلرفیل a، b و کل همخوانی دارد.

در بررسی شاخص عملکرد نتایج نشان داد، PI (شاخص عملکرد برای نگهداری انرژی از فتون‌های جذب شده توسط فتوسیستم II، جهت احیای Q_B) در پایه مامایی با میانگین ۳/۱۹ به‌طور معنی‌داری نسبت به پایه ربیع با میانگین ۱/۳۵ بیشتر بود (جدول ۳). شاخص عملکرد به شدت تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت و سطح شدید تنش باعث کاهش ۹۵ درصدی این شاخص نسبت به شاهد گردید. PI یک پارامتر مفید برای ارزیابی فعالیت دستگاه فتوسنتزی به‌شمار می‌رود و بیشتر بودن این شاخص، به بیشتر بودن محتوای کلروفیل نسبت داده‌شده است (Tsimilli_Michael *et al*., 2000). Fv/F_0 در پایه ربیع کمتر از پایه مامایی بود و اختلاف آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود. از طرف دیگر سطوح مختلف کم‌آبیاری باعث کاهش معنی‌دار این شاخص نسبت به شاهد شد (جدول ۳). شاخص‌های Fj و Fi که برآوردهایی از فلورسانس را نشان می‌دهند تحت تأثیر اثرات متقابل تیمارها بودند و Fj در اثر تنش خشکی کاهش یافت و کمترین مقدار آن در رقم ربیع تحت تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی ثبت گردید. واکنش تجزیه آب که در فتوسیستم II انجام می‌شود به شاخص Fv/F_0 نسبت داده شده و به شدت تحت تاثیر تنش خشکی به‌ویژه در پایه ربیع قرار گرفت. حساس‌ترین جزء زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی کمپلکس تجزیه آب است که به شدت تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت و کاهش این نسبت می‌تواند ناشی از اختلال در انتقال الکترون فتوسنتزی باشد (Pereira *et al*., 2000). فلورسانس متغیر نسبی (Vj) تنها تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت و مقدار آن در اثر اعمال محدودیت آبیاری افزایش یافت (جدول ۴). شاخص‌های QE_0 در رقم مامایی بیشتر از ربیع بود و هردو در اثر تنش خشکی نسبت به شاهد کاهش یافتند و بیشترین کاهش در سطح شدید تنش خشکی دیده شد. در شاخص RC/ABS اثر متقابل رقم و تنش خشکی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود و کم‌ترین میزان آن در تیمار ربیع و ۴۰ درصد تنش خشکی با میانگین ۰/۱۹ مشاهده شد که با سطح ۶۰ درصد تنش خشکی در رقم ربیع و ۴۰ درصد تنش خشکی در رقم مامایی تفاوت معنی‌داری نداشت. QE_0 نشاندهنده انتقال الکترون به دلیل جذب یک فتون است که باعث انتقال الکترون از Q_A می‌شود و کاهش آن در اثر تنش خشکی نشاندهنده کاهش در انتقال الکترون فتوسنتزی است (Shamshiri & Fattahi, 2016). شار جذبی در هر مرکز واکنش RC/ABS در اثر تنش خشکی کاهش یافت که می‌تواند به دلیل آسیب به مراکز واکنش، به‌ویژه فتوسیستم II باشد.

ماتریس ضرایب همبستگی نشان داد همبستگی‌های زیاد و شدیدی بین فاکتورهای مختلف وجود دارد (جدول ۳). شاخص حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) با وزن تر و خشک به ترتیب همبستگی ۰/۷۷۶ و ۰/۷۵۱ و با کلرفیل a، b و کل به‌ترتیب همبستگی ۰/۷۵۳، ۰/۶۸۴ و ۰/۷۵۴ نشان داد. بنابراین زمانی که میزان عملکرد کوانتومی فتوسیستم II کاهش یافته میزان شاخص‌های وزن تر و خشک و غلظت کلروفیل نیز کاهش یافته است و دارای رابطه همبستگی قوی می‌باشد. از طرف دیگر رابطه قوی بین شاخص عملکرد (PI) و شاخص‌های وزن تر با ضریب ۰/۶۸۵، وزن خشک با ضریب ۰/۶۹۵ و کلرفیل کل با ضریب ۰/۶۴۷ از نظر کاهش در شاخص ها ثبت گردید (جدول ۵).

جدول ۳- اثرات ساده تنش خشکی بر پارامترهای فلورسانس حاصل از داده‌های استخراج شده از دو رقم بادام، ۴۰ روز پس از شروع تنش خشکی

Table 3- The simple effect of drought stress on the fluorescence parameters derived from the extracted data of two almond cultivars 40 days after drought stress commencement

تیمارها Treatments	شار جذبی در هر مرکز واکنش RC/ABS	انتقال الکترون QE0	فلورسانس متغیر نسبی Vj	فلورسانس در حدود ۲۰ تا ۳۰ میلی‌ثانیه Fi	فلورسانس در ۲ میلی‌ثانیه Fj	نسبت متغیرهای F_v/F_0	شاخص عملکرد PI
رقم Cultivar							
'ربیع' 'Rabie'	0.84[b]	0.28[b]	0.52[ns]	10684[ns]	7267[ns]	1.15[b]	1.35[b]
'ممایی' 'Mamaei'	1.43[a]	0.41[a]	0.39[ns]	11902[ns]	7530[ns]	2.05[a]	3.19[a]
تنش خشکی Drought stress (%FC)							
100(Control)	2.34[a]	0.57[a]	0.26[b]	13177[ns]	7598[ns]	3.06[a]	5.61[a]
80	1.08[b]	0.37[b]	0.35[b]	11114[ns]	8581[ns]	1.49[b]	2.00[b]
60	0.88[b]	0.30[b]	0.50[ab]	10499[ns]	7294[ns]	1.44[b]	1.17[c]
40	0.25[c]	0.13[c]	0.72[a]	10383[ns]	6120[ns]	0.41[c]	0.28[d]

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در هر تیمار بر اساس آزمون چندامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 5% of probability level, using Duncan's multiple range test

جدول ٤- اثر متقابل رقم ×تنش خشکی بر پارامترهای فلورسانس ، ٤٠ روز پس از شروع تنش خشکی در بادام

Table 4- The interaction effect of cultivar × drought stress on the fluorescence parameters 40 days after drought stress commencement in almond

تیمارها Treatments		شار جذبی در هر مرکز وا کنش RC/ABS	انتقال الکترون QE0	فلورسانس متغیر نسبی Vj	فلورسانس در حدود ۲۰ تا ۳۰ میلی‌ثانیه Fi	فلورسانس در ۲ میلی‌ثانیه Fj	نسبت متغیرهای F_v/F_0	شاخص عملکرد PI
رقم Cultivar	تنش خشکی Drought stress (%FC)							
'ربیع' 'Rabie'	100 (Control)	1.82^{b}	0.53^{ns}	0.28^{ns}	13918^{a}	8079^{ab}	2.39^{b}	3.93^{b}
	80	1.03^{c}	0.33^{ns}	0.40^{ns}	12445^{ab}	10228^{a}	1.39^{c}	1.06^{de}
	60	0.33^{d}	0.16^{ns}	0.64^{ns}	5491^{b}	4521^{b}	0.51^{d}	0.27^{e}
	40	0.19^{d}	0.09^{ns}	0.77^{ns}	10882^{ab}	6240^{b}	0.29^{d}	0.13^{e}
'مامایی' 'Mamaei'	100 (Control)	2.86^{a}	0.61^{ns}	0.23^{ns}	12435^{ab}	7118^{ab}	3.73^{a}	7.30a
	80	1.12^{c}	0.42^{ns}	0.30^{ns}	9782^{ab}	6934^{ab}	1.59^{c}	2.95^{bc}
	60	1.44^{bc}	0.45^{ns}	0.36^{ns}	15507^{a}	10067^{a}	2.36^{b}	2.07^{cd}
	40	0.32^{d}	0.18^{ns}	0.66^{ns}	9885^{ab}	6000^{b}	0.52^{d}	0.43^{e}

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در هر تیمار بر اساس آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 5% of probability level, using Duncan's multiple range test

ماتریس ضرایب همبستگی نشان داد همبستگی‌های زیاد و شدیدی بین فاکتورهای مختلف وجود دارد (جدول ۳). شاخص حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) با وزن تر و خشک به ترتیب همبستگی ۰/۷۷۶ و ۰/۷۵۱ و با کلرفیل a، b و کل به‌ترتیب همبستگی ۰/۷۵۳، ۰/۶۸۴ و ۰/۷۵۴ نشان داد. بنابراین زمانی که میزان عملکرد کوانتومی فتوسیستم II کاهش یافته میزان شاخص‌های وزن تر و خشک و غلظت کلروفیل نیز کاهش یافته است و دارای رابطه همبستگی قوی می‌باشد. از طرف دیگر رابطه قوی بین شاخص عملکرد (PI) و شاخص‌های وزن تر با ضریب ۰/۶۸۵، وزن خشک با ضریب ۰/۶۹۵ و کلرفیل کل با ضریب ۰/۶۴۷ از نظر کاهش در شاخص ها ثبت گردید (جدول ۵).

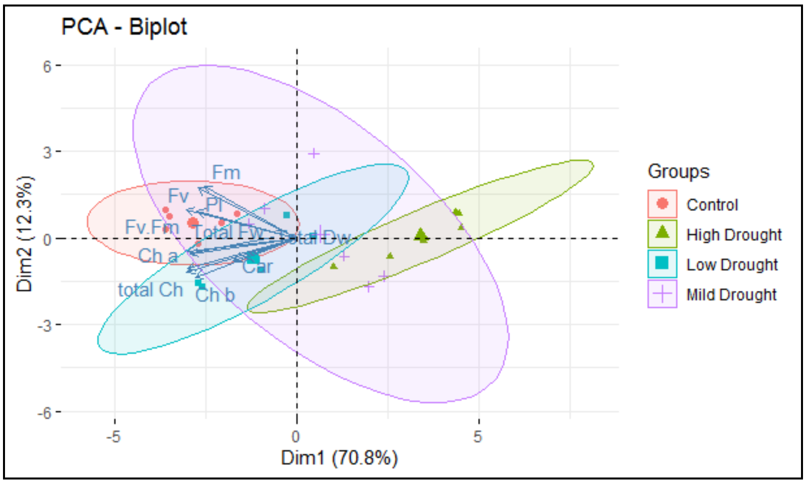
جدول ۵- ماتریس ضرایب همبستگی میان برخی صفات در شرایط تنش خشکی

Table 5- Matrix of correlation coefficients between some characteristics under drought stress conditions

متغیرها	حداکثر فلورسانس Fm	حداکثر فلورساس متغیر Fv	حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II Fv/Fm	شاخص عملکرد PI	انتقال الکترون QE0	وزن تر کل Total fresh weigth	وزن خشک کل Total dry weigth	کلروفیل آ Ch a	کلروفیل ب Ch b	کلروفیل کل Total Ch	کارتنوئیدها Carotenoids
Fm	**1.000**										
Fv	***0.904	**1.000**									
Fv/Fm	***0.866	***0.917	**1.000**								
PI	**0.689	**0.810	**0.797	**1.000**							
QE0	**0.827	***0.858	***0.901	**0.841*	**1.000**						
Total fresh wwigth	*0.598	**0.661	**0.776	**0.685	0.663**	**1.000**					
Total dry weigth	0.550	**0.612	**0.751	**0.695	0.661**	**0.957*	**1.000**				
Ch a	0.532	*0.590	**0.753	**0.645	0.670**	**0.848*	**0.822	**1.000**			
Ch b	0.453	0.481	**0.684	*0.589	0.591*	**0.755	**0.764	***0.867	**1.000**		
Total Ch	0.524	0.574	**0.754	**0.647	0.666**	**0.845*	**0.828	***0.989	***0.932	**1.000**	
Carotenoids	0.359	0.369	0.382	0.364	0.534	0.377	0.304	0.501	0.517	0.520	**1.000**

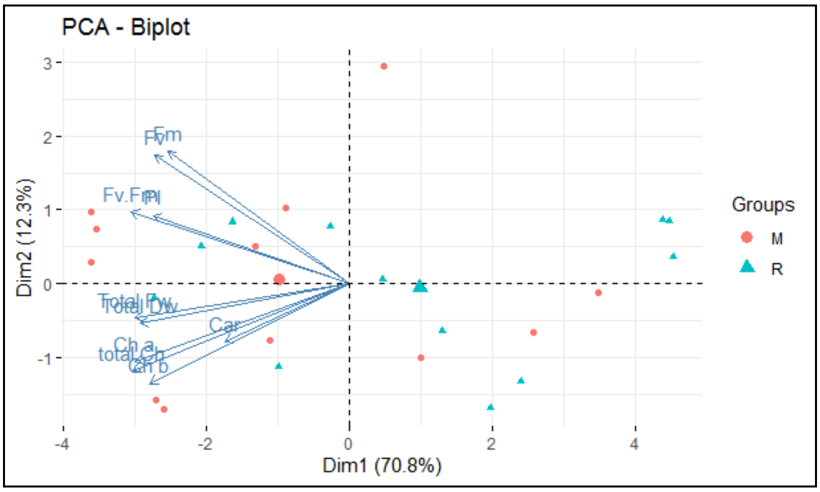
***، ** و * به‌ترتیب نشان‌دهنده شدت رابطه بسیار قوی، رابطه قوی و رابطه متوسط در همبستگی پیرسون است. Fm حداکثر فلورسانس، Fv حداکثر فلورسانس متغیر، Fv/Fm حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II، PI شاخص عملکرد، Ch کلروفیل، Car کاروتنوئید می‌باشد.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد کم‌ترین محتوای کلروفیل a، b و کل و همچنین کم‌ترین میزان شاخص عملکرد و شاخص‌های فلورسانس کلرفیل در تنش شدید خشکی وجود داشت و در مقایسه با شاهد دارای گروه جداگانه است اما سطح تنش خفیف و متوسط با شاهد همپوشانی دارد (شکل ۱). از طرفی تجزیه به مؤلفه‌ها برای هر دو رقم ربیع و مامایی نشان داد که تا حدودی رقم مامایی نسبت به رقم ربیع از نظر شاخص‌های کلروفیل فلورسانس مانند Fm، Fv، Fv/Fm، شاخص عملکرد (PI) و وزن تر و خشک در وضعیت بهتری قرار دارد (شکل ۲).



شکل ۱- تجزیه به مولفه‌های اصلی شاخص‌های مختلف در سطوح متفاوت تنش خشکی (شاهد، تنش کم، متوسط و شدید)

Figure 1- Principal component analysis (PCA) of different indicators at various levels of drought stress (control, Low, Mild and High)



شکل ۲- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای صفات مختلف در دو رقم بادام (‹مامایی› و ‹ربیع›) تحت تنش خشکی

Figure 2- Principal component analysis (PCA) for different indicators in two almond cultivars (M: 'Mamaei' and R: 'Rabie') under drought stress

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج بیانگر حساسیت بیشتر پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگی و شاخص ماده خشک دانهال‌های ربیع نسبت به رقم مامایی بود. با توجه به این که رشد رویشی گیاه برآیندی از اسیمیلاسیون CO_2 و فتوسنتز است با افزایش شدت تنش خشکی رشد رویشی (وزن تر و خشک کل گیاه) بیشتر کاهش یافت. همچنین بیشترین میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل و همچنین شاخص PI در گیاهان شاهد وجود داشت که با افزایش شدت تنش خشکی از مقدار آن‌ها کاسته شد (شکل ۱ و ۲). از میان دو ژنوتیپ مورد مطالعه، رقم مامایی کمترین تغییرات را در پارامترهای فلورسانس، در قبال اعمال تیمار خشکی نشان داد. حداکثر کارایی کوانتومی فتوشیمیایی فتوسیستم II، حداکثر شاخص عملکرد و واکنش تجزیه آب در رقم مامایی نسبت به رقم ربیع بیشتر بود. بنابراین می‌توان رقم مامایی پیوند شده بر روی پایه GN15 را به عنوان ژنوتیپ متحمل‌تر نسبت به تنش خشکی در مقایسه با ربیع نام برد.

References

1. Ali, M.A., Jabran, K., Awan, S.I., Abbas, A., Zulkiffal, E.M., Acet, T., Farooq, J., & Rehman, A. (2011). Morphophysiological diversity and its implications for improving drought tolerance in grain sorghum at different growth stages. *Australian Journal of Crop Science*, *5*, 311-320.
2. Apostolova, E.L., Dobrikova, A.G., Ivanova, P.I., & Petkanchin, I.B. (2006). Relationship between the organization of the supercomplex and functions of the photosynthetic apparatus. *Journal Photochemistry Photobiology Biology*, *83*(2), 114-122.
3. Bacelar, E.A., Santos, D.L., Jose, M.M.P., Goncalves, B.C., Ferreira, H.F., & Correia, C.M. (2006). Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Science*, *170*, 596–605.
4. Baker, N.R., & Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, *55*(403), 1607-1621.
5. Baker, N.R. (1991). A possible role for photosystem II in environmental perturbation of photosynthesis. *Physiologia Plantarum*, *81*, 563-570.
6. Barzegar, K., Yadollahi, A., Imani, A., & Ahmadi, N. (2012). Response to drought stress of almond cultivars and genotypes grown under field conditions. *International Journal of Agriculture Research and Review*, *2*, 205-210.
7. Cirio, U. (1997). Agrochemicals and environmental impact in olives farming. *Olivea*, *65*, 32-39.
8. Fathi, H., Amiri, M.E., Imani, A., Hajilou, J., & Nikbakht, J. (2017). Response of almond genotypes/cultivars grafted on GN15 “Garnem” rootstock in deficitirrigation stress conditions. *Journal of Nuts*, *8*, 123–135. https://doi.org/10.22034/jon.2017.536243
9. Fathi, H., Eimani, A., Amiri, E., Hajilo, J., & Nikbakht, J. (2019). Growth and biochemical responses of some GN15-Rootstock almond genotypes to low irrigation stress. *Plant Process and Function*, *8*, 29. In Persian
10. Hassani, Z., Pirdashti, H., Yaghobian, Y., & Nori, M.Z. (2014). Application of chlorophyll fluorescence technique to evaluate the tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to cold temperature and water stresses. *Journal of Cell & Tissue (JCT) Original Article Summer*, *5*(2), 195-206. (In Persian)
11. Hu, W.H., Zhou, Y.H., Du, Y.S., & Xia, X.J. (2006). Differential response of photosynthesis in greenhouse and field ecotypes of tomato to long-term chilling under low light. *Journal Plant Physiology*, *163*, 1236-1246.
12. Hussain, M., Malik, M.A., Farooq, M., Ashraf, M.Y., & Cheema, A. (2008). Improving drought 11 tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. *Journal Agronomy and Crop Science*, *194*, 193–199.
13. Hussain, M., Malik, M.A., Ashraf, M.Y., & Cheema, A. (2009). Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *184*, 173–179.
14. Jimenez, S., Fattahi, M., Bedis, K., Nasrolahpour-moghadam, S., Irigoyen, J.J., & Gogorcena, Y. (2020). Interactional effects of climate change factors on the water status, photosynthetic rate, and metabolic regulation in peach. *Frontier Plant Science*, *11*, 43. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00043
15. Karimi, S., Yadollahi, A., Arzani, K., Imani, A., & Aghaalikhani, M. (2015). Gas- exchange response of almond genotypes to water stress. *Photosynthetica*, *53*, 29-34.
16. Levitt, J. (1980). *Responses of plants to environmental stresses*, Volume II: Water, radiation, salt and other stresses. Academic Press, New York, 479 p.
17. Li, G.M., Liu, B.B., Wu, Y., & Zou, Z.R. (2008). Interactive effects of drought stresses and elevated CO_2 concentration on photochemistry efficiency of cucumber seedlings. *Journal of Integrity Plant Biology*, *50*(10), 1307-1317.
18. Li, X.G., Duan, W., Meng, Q.W., & Zou, Q. (2004). The function of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in tobacco during chilling stress under low irradiance. *Plant Cell Physiology*, *45*(1), 103-108.
19. Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods Enzymology*, *148*, 350–382.
20. Mehata, P., Jajoo, A., Mathur, S., & Bharti, S. (2010). Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(1), 16-20.
21. Parvaiz, A., & Satyawati, S. (2008). Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Environment*, *54*, 89-99.
22. Pereira, W.E., Siqueira, D.L., & Martínez, C.A. (2000). Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four Citrus rootstocks under aluminium stress. *Plant Physiology*, *157*, 513–520.
23. Pstrasser, R.J., Srivastava, A., & Tsimilli-Michael, M. (2001). *The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples*, chapter 25. page 445.
24. Rieger, M., Lo Bianco, R., & Okie, W.R. (2003). Response of *Prunus ferganensis*, *Prunus persica* and two interspecific hybrids to moderate drought stress. *Tree Physiology*, *23*, 51-58.
25. Shamshiri, M.H., & Fattahi, M. (2016). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosystem II activity of three pistachio rootstocks under salt stress as probed by the OJIP_test. Russ. *Journal of Plant Physiology*, *63*(1), 101–110.

26. Strasser, R., Srivastava, A., & Tsimilli_Michael, M. (2000). The fluorescence transient as a tool to haracterize and screen photosynthetic samples, in Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation, Yunus, M. Pathre, U., and Mohanty, P., Eds., London, UK: Taylor and Francis pp. 445–483. 7.
27. Strasser, R.J., Srivastava, A., & Tsimilli_Michael, M. (2004). Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient, in Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration, Papagrorgiou, G.C. and Govindjee, B.K., Eds., Dordrecht: Springer_Verlag pp. 321–362.
28. Tsimilli_Michael, M., Eggenberg, P., & Biro, B. (2000). Synergistic and antagonistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen_fixers on the photosynthetic activity of alfalfa, probed by the polyphasic chlorophyll a fluorescence transient OJIP, *Apply Soil Ecology*, *15*, 169–182.
29. Xia, A., Li, Y., & Zou, D. (2004). Effects of salinity stress on PSII in Ulva lactuca as probed by chlorophyll fluorescence measurements. *Aquatomy and Botany*, *8*, 129-137.
30. Yadollahi, A., Arzani, K., Ebadi, A., Wirthensohn, M., & Karimi, S. (2011). The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance. *Scientia Horticulturae, 129*, 403-413.
31. Yaman, K., Kawasaki, M., Taniguchi, M., & Miyake, H. (2008). Correlation between chloroplast ultrastracture and chlorophyll fluorescence characteristics in the leaves of rice (*Oryza sativa* L.) grown under salinity. *Plant Product Science*, *11*(1), 139-145.
32. Yao, J., Sun, D., Cen, H., Xu, H., Weng, H., Yuan, F., & He, Y. (2018). Phenotyping of arabidopsis drought stress response using kinetic chlorophyll fluorescence and multicolor fluorescence imaging. *Frontiers in Plant Science, 9*, 603. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00603
33. Zlatev, Z. (2009). Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence of young wheat plants. *Biotechnoly Biotechnoly*, *23*(4), 438-441.
34. Zhou, R., Yu, X., Ottosen, C.O., Rosenqvist, E., Zhao, L., & Wang, Y. (2017). Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC Plant Biology*, *17*, 24. https://doi.org/10.1186/ s12870-017-0974-x